

宿主の免疫発現と小形条虫の成熟度, 生存期間との関係

加 納 至 朗 伊 藤 亮

(昭和58年1月5日 受領)

Key words: *Hymenolepis nana*, cestode, fecundity and longevity, autoinfection, immunogenicity of lumen phase, mouse strains

緒 言

小形条虫 (*Hymenolepis nana*) は全世界の温暖な地域を中心に広く分布し、約3,000万人の感染者の存在が推定されている最も普通の条虫の一種であり (Crompton and Joyner, 1980), とくに小児の感染例が多いことが報告されている (WHO, 1981). 本虫は中間宿主の昆虫を介しても、また中間宿主なしに虫卵が直接宿主 (マウス, ヒトなど) に侵入した場合でも終宿主の小腸で成虫に発育するが、終宿主における本虫の寿命は1~2カ月以内とみなされている (Heyneman, 1961; Weinmann, 1971; WHO, 1981).

本虫はネズミ (主にマウス) ならびにヒトを終宿主とすることから、マウスを用いた感染実験より多くの情報が得られている。とくに虫卵を摂取したマウスが終生強い再感染防御免疫を獲得する事実 (Hunninen, 1935a; Hearin, 1941) から免疫学的解析のモデルとして用いられている寄生虫でもある (Heyneman, 1963; Weinmann, 1966, 1970; Gemmell and MacNamara, 1972; Gemmell, 1976; Williams, 1982). すなわち虫卵を直接経口摂取した (直接感染) マウスが虫卵摂取後、数日以内に強い再感染防御免疫を獲得するのに対し、擬嚢尾虫を摂取した (間接感染) マウスでは、初感染虫体によって産出された虫卵による自家感染が起こらない限り、再感染防御免疫が獲得されないと考えられてきた (Heyneman, 1961, 1962, 1963).

小形条虫は虫卵から成虫までの全生活環を同一宿主腸管寄生で完了できる特徴を有することから、本虫の虫卵から成虫までの発育に伴う免疫原の変化、免疫宿主体

岐阜大学医学部寄生虫学教室

内での初感染虫体の発育生存機構の問題など、医学生物学的に興味ある問題が最近やつと解析され始めた状態である (Brown, 1976; Ito, 1978, 1980).

著者らは本虫の生存期間が例外的に非常に長い可能性が示唆されている昭和大学医学部医動物学教室から分与され現在当教室で繁殖維持している dd マウス (Ito, 1978) と市販の最も入手し易い ddY マウスとを用いて、これら2系統マウスにおける本虫感染動態の経日変化を定量的指標を用いて比較観察し (実験1), 次に再感染防御免疫の発現動態 (実験2), 自家感染の動態 (実験3) についても比較検討を加えた。その結果、(1) 本虫の生存期間は両系統マウス間で著しく異なること、とくに昭和大学より分与された dd マウスでは他の系統より本虫の生存期間が著しく長いこと (実験1), (2) マウス系統間での本虫の生存期間の長短は本虫の tissue phase に対する免疫の影響ではなく lumen phase に対する免疫の発現速度の違いにより、マウス系統間で著しく異なること (実験3) を示唆する成績を得たので報告する。

材料と方法

材料

宿主: 実験には、昭和大学医学部医動物学教室から分与され、現在当教室で closed colony として繁殖維持している worm-free の dd マウス (Ito, 1981), 静岡県実験動物農業協同組合から購入した SPF の ddY マウスならびに BALB/c マウスとを用いた。いずれのマウスも5~6週令時に実験に供した。上記の由来を異にする dd, ddY マウスを以下本文中では、ことわりなしに dd マウス, ddY マウスと表現する。

実験1では dd マウス (雄40匹, 雌36匹, 計76匹), ddY マウス (雄83匹, 雌83匹, 計166匹) を用いた。実験2-Aでは dd マウス (雌雄合計55匹), ddY マウス (雄49匹), BALB/c マウス (雌雄合計79匹) を用いた。実験2-Bでは ddY マウス (雄60匹, 雌45匹, 計105匹) を用いた。実験3では dd マウス (雄18匹, 雌10匹, 計28匹), ddY マウス (雄16匹, 雌17匹, 計33匹) を用いた。小形条虫の虫卵提供マウスとしては別に準備した dd マウスならびに ddY マウス個体を用いた。擬囊尾虫提供マウスとしては, ddY マウスのみを用いた。

未感染マウス個体群と感染マウス個体群とを厳密に隔離された同一環境条件下 ($24 \pm 2^\circ\text{C}$, $55 \pm 10\%$ 湿度) で飼育した。飼料 (クレア, CA-1) と水は毎日十分量を与え, ケージの床敷は, 隔日に新しい床敷と取換えた。ケージ (縦 22cm, 横30cm, 高さ11cm) あたりマウス個体数は約10匹とした。

寄生虫: 小形条虫の虫卵は, マウスに経口投与する前日に両系統虫卵提供マウスの小腸から得た成熟虫体の受胎節より採取し, 生理食塩水に浮遊させ, 使用直前まで 4°C に保存した。感染に用いた虫卵は, Berntzen and Voge (1965) の方法により卵殻を除去した虫卵, すなわち脱殻虫卵である。擬囊尾虫は実験2-Bおよび実験3における所定の擬囊尾虫投与日の5日前 (約110時間前) に脱殻虫卵 (約 1×10^6 個/0.5ml 生理食塩水) を経口投与してある擬囊尾虫提供 ddY マウス 数匹の小腸壁から既報のごとく集めた (Ito, 1977a)。

感染方法

虫卵, 擬囊尾虫の投与方法: 脱殻虫卵, 20個, 100個, あるいは2,000個を 0.1ml 生理食塩水に浮遊するように調製し, 所定の日時に先端を丸めた 21G 注射針付きツベルクリン用注射器 (全容量0.25ml) で直接マウス胃内に注意深く確実に投与した。擬囊尾虫 (被囊虫体ならびに脱囊虫体を含む) は, 約200~500隻/0.2~0.3ml 生理食塩水 (実験2-B) ならびに約100隻/0.2~0.3ml 生理食塩水 (実験3) に調製し, エーテル麻酔下のマウスに胃ゾンデを用いて確実に投与した。

実験方法

実験1: dd, ddY 両系統マウス個体群に脱殻虫卵100個/0.1ml に調製した同一虫卵浮遊液を経口投与した後, ddY マウスでは, 10日目, 12日目, 15日目, 20日目, 30日目, 40日目, 60日目および90日目に, dd マウスでは15日目, 30日目, 60日目, 90日目に各々雌雄別約10匹ずつ無作為に抽出して剖検し, 本虫の寄生率, 寄生虫体

数, 湿重量, 成熟度ならびに糞便 1g 中の虫卵数 (EPG) それぞれの経日変化を観察した。本虫の寄生率, 寄生虫体数, 湿重量, 成熟度の測定には Ito (1981) の方法を用いた。EPG を測定するための所定の剖検日の前夜から5匹ずつ金網床のケージに移し, 剖検直前に新鮮な固形便のみを各ケージから 1g 採取し, 20ml の三角コルベンに入れ, 少量の生理食塩水を注いで糞便を湿らせ一昼夜 4°C に保存した後, 生理食塩水 20ml を加え, マグネテックスターラーで糞塊がなくなるまで20分間十分攪拌した。攪拌後ナイロンガーゼを通して濾過し, 濾液を 100ml に調製した。この濾液をマグネテックスターラーで均一な懸濁液としながら, 0.05ml をメスピペットでスライドガラス上にとり, 顕微鏡下 (倍率100倍) で虫卵数を数えた。EPG は4ケージ分の測定値の平均 $\times 2,000$ として求めた。

実験2-A: dd, ddY, BALB/c の3系統マウスについて, それぞれの個体群を無作為に2群 (実験群, 対照群) に分けた。実験群マウスには, 20個の脱殻虫卵を経口投与した後, 所定の日時に2,000個の脱殻虫卵を再投与した。対照群には実験群マウスの2,000個虫卵再投与時に, 同様に2,000個を初投与した。2,000個虫卵投与の4日後 (90~96時間後) に剖検し, 実験群, 対照群マウスの腸腔内寄生虫体の有無を記録した後, Hunninen (1935b) の方法に従って, 腸絨毛内寄生擬囊尾虫の有無を顕微鏡下 (倍率40倍) で検索した。

実験2-B: ddY マウス 105匹を無作為に3群 (虫卵+擬囊尾虫投与実験群, 虫卵投与対照群, 擬囊尾虫投与対照群) に分けた。実験群ならびに虫卵投与対照群マウスには20個の脱殻虫卵を同時に投与した。次に所定の擬囊尾虫 challenge の日 (虫卵投与後10日目, 15日目, 20日目, 30日目) に実験群ならびに擬囊尾虫対照群マウス個体に200~500隻の擬囊尾虫を同時に投与し, その7日後に全個体群を剖検し, 虫卵由来成虫, 擬囊尾虫由来成虫寄生の有無を検索した。

実験3: ddY マウス由来の擬囊尾虫約100隻を ddY マウス33匹と dd マウス28匹に同時に経口投与し, 投与後25日目に全個体群を剖検し, 糞食による再感染と自家感染とを区別せず, 初感染虫体の有無, 初感染虫体より産出された虫卵由来の (自家) 再感染虫体の有無を虫体の大きさ, 成熟度 (受胎節数) を指標に区別して観察した。

実験結果の統計処理法

実験2-Aでは実験群, 対照群それぞれにおける challenge 虫卵由来の擬囊尾虫数の平均値について, Student

t-test により危険率 5%以下 ($p < 0.05$) で有意差検定を行い、実験群における虫卵 challenge に対する再感染防御免疫発現の有無を判定した。

結 果

実験 1: dd, ddY 両系統マウス個体群間での小形条虫初感染像の経日的変化について定量的指標を用いて比較観察した。両系統マウス雄個体(dd雄40匹, ddY雄83匹)を用い、1個体あたり100個の脱殻虫卵を同時に経口投与した後、一定日に剖検し、1) 寄生率、2) 虫体数、3) 湿重量、4) 虫体内虫卵数、5) EPG の経日変化を調べた。同じ実験を両系統マウス雌個体(dd雌36匹, ddY雌83匹)を用いて行った。両系統マウス個体群間で本虫の初感染像に著しい相違が認められたが、同一系統マウスにおける雌雄の性差による差は認められなかつたので Table 1 では雌雄それぞれの個体群における成績を一括しとめて1) ~5) の結果を示した。

虫卵投与後15日目までは、全個体からほぼ同数の虫体が検出されたにもかかわらず、ddYマウスでは、虫卵摂取後20日目には虫体の検出されない個体が出現し、60日目には半数の個体(10匹/20匹)で虫体が認められなくなつた。90日目には虫体の認められない個体数がさらに増加していた(12匹/18匹)。また20日目以後、虫体が検出された個体においても寄生虫数が著しく減少し始め、60日目までに大部分(94.5%)が排出された。対照

的に dd マウスでは、90日目に20個体中ただ1個体で虫体寄生が認められなかつただけで、それ以外の全個体から90日目まで、感染初期虫体数の約半数の成熟虫体が検出された。

虫体の成熟度も ddY マウスでは、15日目を最高に、20日目以後虫体数の急激な減少と共に、湿重量、虫卵数、EPG いずれも著しく減少した。これに対して、dd マウスでは、30日目でも虫体数は殆ど変わらず、湿重量、虫卵数、EPG も同様であつた。さらに60日令虫体ならびに90日令虫体の成熟度は、ddY マウスの15日令虫体の成熟度にほぼ匹敵する成績で、dd マウス 寄生虫体は明らかに ddY マウス寄生虫体よりも成熟度が著しく高く、生存期間も著しく長かつた。

実験 2: ddY マウス, ddマウス, BALB/c マウスにおける虫卵 challenge ならびに擬囊尾虫 challenge に対する再感染防御免疫の発現時期を調べた。

2-A: 虫卵摂取マウスにおける虫卵 challenge に対する再感染防御免疫の発現時期を3系統マウスについて調べ、その成績を Table 2 に示した。最も早く免疫の発現をみたのが ddY マウスであつた。虫卵摂取後24時間目の実験群における再感染幼虫数は対照群に比べ有意に減少し($p < 0.02$)、さらに72時間までに殆どの個体で再感染幼虫が検出されない強い免疫の成立をみた。BALB/c マウスは ddY マウスに比べ若干免疫発現速度が遅く24時間目では対照群と差が認められなかつたが、48時間目

Table 1 Comparison of the kinetics of infection with *Hymenolepis nana* between dd and ddY closed colonies of mice

Day of autopsy	No. of mice infected / No. of mice examined	No. of worms Mean \pm S. D. (range)	Biomass (mg) Mean \pm S. D. (range)	Egg output Mean No.	E.P.G. Average No.
ddY mice					
10	21/21	20.0 \pm 5.7 (12-33)	7.3 \pm 5.4 (1.0-19.8)	0	0
12	21/21	28.3 \pm 5.2 (16-38)	29.8 \pm 14.6 (6.9-64.3)	2.2 $\times 10^4$	0.1 $\times 10^4$
15	21/21	27.0 \pm 5.7 (16-34)	46.2 \pm 16.3 (20.3-76.5)	8.7 $\times 10^4$	3.0 $\times 10^4$
20	16/22	14.9 \pm 7.7 (3-23)	20.0 \pm 14.7 (2.8-58.2)	2.7 $\times 10^4$	0.9 $\times 10^4$
30	17/21	12.8 \pm 9.0 (2-28)	20.8 \pm 16.0 (<0.1-56.1)	1.8 $\times 10^4$	0.5 $\times 10^4$
40	13/22	9.6 \pm 6.0 (2-20)	18.2 \pm 15.1 (5.2-66.1)	1.5 $\times 10^4$	0.2 $\times 10^4$
60	10/20	5.1 \pm 5.8 (1-21)	10.0 \pm 7.1 (1.3-24.6)	0.4 $\times 10^4$	0.2 $\times 10^4$
90	6/18	2.5 \pm 2.3 (1- 8)	7.0 \pm 2.6 (4.3-10.7)	0.5 $\times 10^4$	0.1 $\times 10^4$
dd mice					
15	21/21	29.0 \pm 6.4 (17-39)	52.5 \pm 14.6 (26.4- 78.2)	12.2 $\times 10^4$	5.7 $\times 10^4$
30	19/19	24.5 \pm 5.6 (14-35)	55.0 \pm 19.6 (27.0-102.6)	11.0 $\times 10^4$	5.1 $\times 10^4$
60	16/16	21.3 \pm 7.5 (11-39)	34.1 \pm 14.8 (10.5- 64.4)	6.2 $\times 10^4$	3.1 $\times 10^4$
90	19/20	17.4 \pm 8.9 (1-29)	32.0 \pm 16.7 (1.5- 66.2)	5.1 $\times 10^4$	2.2 $\times 10^4$

Table 2 Onset of protective immunity against *Hymenolepis nana* egg challenge (early response) in the three (dd, ddY and BALB/c) strains of mice

Mouse group	Hr of egg challenging after initial immunizing egg inoculation				
	24	48	72	96	120
dd-Exp.	4/4*:583± 65.4†	4/4: 137±127.1	7/7 : 305±266.6	7/7 : 17.6± 29.0	0/6 : 0
dd-Cont.	4/4: 580± 55.1	4/4: 377±127.3	7/7 : 730±139.1	6/6 : 391 ± 90.6	6/6 : 427± 23.5
Student t-test	N.S.	p<0.05	p<0.01
ddY-Exp.	5/5: 150± 91.6	5/5: 80±116.9	2/5 : 1	1/5 : 1	0/5 : 0
ddY-Cont.	4/4: 390±134.3	5/5: 306± 71.1	5/5 : 540±114.2	5/5 : 354±102.0	5/5 : 259± 61.1
Student t-test	p<0.02	p<0.01
BALB/c-Exp.	8/8: 451±259.7	8/8: 179±167.1	3/11: 28± 26.0	3/10: 27± 41.9	0/10: 0
BALB/c-Cont.	8/8: 632±169.0	8/8: 517± 52.3	8/8 : 366± 43.3	3/3 : 387± 28.8	5/5 : 377±127.3
Student t-test	N.S.	p<0.001

All the mice of Exp. groups were each given about 20 shell-free eggs and challenged with 2,000 shell-free eggs, whereas those of Cont. groups were each given 2,000 shell-free eggs only. All the mice were killed 4 days after each egg challenge.

*: No. of mice infected with cysticercoids derived from challenge eggs/No. of mice examined.

†: No. of cysticercoids recovered (Mean±S.D.).

には幼虫数の有意の減少が認められ (P<0.01), 72時間以内に殆どの個体で ddY 同様の強い免疫の成立をみた。一方 dd マウスでは48時間目以後実験群における再感染幼虫数の低下は認められたが, 96時間でもなお全個体で少数ながら再感染幼虫像が観察され, ddYマウス, BALB/c マウスに比べ明らかに免疫発現速度がおそかった。

2-B: 虫卵摂取 ddY マウスにおける擬囊尾虫 challenge に対する再感染防御免疫の発現時期を調べ, その成績を Table 3 に示した。Table 3 には dd, BALB/c 両系統マウスのそれぞれにおける成績 (Ito, 1980) をも比較考察のために付記した。

ddY マウスの擬囊尾虫に対する免疫発現は虫卵摂取後10日目までは全く認められず, 15日目以後に認められた。15日実験群における擬囊尾虫由来成虫の寄生虫体数は対照群寄生虫体数の36.8%に減少し, さらに20日目実験群では虫体寄生の認められない個体が出現し, 平均虫体数は対照群の9.4%に減少していた。30日目実験群では虫体寄生が認められた個体は10匹中4匹でいずれも1~4条でごく少数の虫体寄生であった。他の6匹からは虫体が検出されず平均虫体数は対照群の0.6%にすぎなかった。

実験3: 擬囊尾虫を最初に投与した dd, ddY 両系統マウスにおける自家再感染像を比較観察した。ddY マウス腸壁から分離した擬囊尾虫100隻を dd, ddY 両系統マ

ウスと同時に経口投与し, 25日後に剖検し, 自家再感染の有無を検索した。ddYマウス33匹中22匹から初感染虫体が検出され, 平均虫体数は8.2条であつた。それに対し, dd マウス28匹全個体から初感染虫体が検出され, 平均虫体数は22.6条で, 同一条件下での感染にもかかわらず, dd マウスにおける初感染虫体数の方がはるかに多く, 虫卵摂取マウスの場合 (実験1) と同様の傾向であつた。

自家感染像の成績を Table 4 に示した。ddマウス28匹中27匹で再感染像が観察され, 再感染虫体数は最高3,000条で平均724条であつた。いずれの再感染虫体個体群も, 5~10mmの細い糸くず状虫体であつたが虫体数の多寡に関係なく, すでに相当数の成熟虫卵を産生していた。一方 ddY マウス33匹中26匹で再感染像が観察され, 再感染虫体数は最高1,270条で平均110条であつた。ddマウス寄生の再感染虫体とは対照的に, ddY マウス寄生の再感染虫体個体群の成熟度は著しく低かつた。Table 4 に示したごとく, ことに虫体密度の低い群ほど未熟虫体だけで構成されている傾向が認められた。

考 察

小形条虫はマウスにおいて虫卵摂取後2週間前後で成熟し, 糞便中への虫卵排出が始まりその後1~2週で虫卵排出が急激に減少し, 大部分の虫体が排出されてしま

Table 3 Onset of protective immunity against *Hymenolepis nana* cysticeroid challenge (late response) in the three (dd, ddY and BALB/c) strains of mice initially given eggs

Day of cysticeroid challenge	Experimental group			Control group			% of worm recovery	
	No. of mice infected with CdW*	No. of mice examined	No. of CdW Mean \pm S.D.	No. of mice infected with CdW*	No. of mice examined	No. of CdW Mean \pm S.D.	Experimental group	Control group
BALB/c micet								
10	6/6		147 \pm 28.8	6/6		155 \pm 32.1	94.8	
12	7/7		27 \pm 15.9	6/6		155 \pm 47.1	17.4	
15	0/6		0	6/6		143 \pm 75.5	0	
20	0/7		0	7/7		72 \pm 34.8	0	
30	0/7		0	7/7		70 \pm 44.2	0	
40	0/7		0	7/7		53 \pm 30.0	0	
ddY mice								
10	10/10		194 \pm 96.9	10/10		155 \pm 72.8	125.2	
15	5/5		16 \pm 12.5	5/5		44 \pm 10.9	36.8	
20	8/10		8.3 \pm 16.6	10/10		71 \pm 38.1	9.4	
30	4/10		2.0 \pm 1.4	10/10		143 \pm 41.3	0.6	
dd mice†								
10	14/14		68 \pm 32.3	14/14		71 \pm 35.4	95.8	
15	5/5		48 \pm 9.0	5/5		44 \pm 12.6	109.0	
20	15/17		28 \pm 34.7	17/17		76 \pm 33.6	36.2	
25	6/7		27 \pm 31.1	7/7		84 \pm 44.2	27.2	
30	3/10		7.7 \pm 4.9	10/10		79 \pm 43.0	9.6	
40	0/20		0	20/20		74 \pm 34.6	0	

Mice of experimental groups of all were initially given about 20 shell-free eggs on Day 0 and challenged with between 200 and 500 mouse-derived cysticeroids, whereas those of control groups were given the same doses of the cysticeroids on the same days, but no eggs.

CdW* : cysticeroid-derived adult worms.

† : The data of both BALB/c and dd mice were modified from Ito (1980, Exp. Parasitol. 49, 251).

Table 4 Comparison of the occurrence of autoinfection with *Hymenolepis nana* between ddY and dd closed colonies of mice initially given about 100 ddY mouse-derived cysticeroids

Mouse strain	No. of mice (auto)reinfected / No. of mice examined	Average No. of worms (auto)reinfected	Population density of worms (auto)reinfected			
			1-10,	10-100,	100-1000,	1000-3000
ddY	26/33	109.5	8* (0/8)†	9 (3/9)	8 (7/8)	1 (1/1)
dd	27/28	724.1	0	4 (4/4)	14 (14/14)	9 (9/9)

All the mice were killed 25 days after initial inoculation with the cysticeroids.

* : No. of mice (auto)reinfected.

† : No. of mice (auto)reinfected with mature worms/No. of mice (auto)reinfected.

Table 5 Survival periods of *Hymenolepis nana* in several strains of mice reported

Mouse strain	Period of worm survival	Authors (year)
?	<35 days	Grassi (1887)
?	≤30 days	Joyeux (1925)
albino	<23 days	Shorb (1933)
white	<33 days	Hunninen (1935)
Heston/A	<30 days	Heyneman (1961)
CD1	<42 days	Ghazal and Avery (1974)
albino	<50 days	Bhopale <i>et al.</i> (1979)
BALB/c	<35 days	Isaak <i>et al.</i> (1977)
BALB/c	<40 days	Ito (1980, 1981)
C F	<44 days	Jaron (1980)
B10	<44 days	Jaron (1980)
CBA	=44 days	Jaron (1980)
CBA	<25 days	Lucas <i>et al.</i> (1980)
DBA	=44 days	Jaron (1980)
Swiss	44 days	Jaron (1980)
BDF1	<28 days	Ferretti <i>et al.</i> (1981)
C57	=31 days	Ferretti <i>et al.</i> (1980)
ddY	≤60 days	Kano and Ito (present data)
It has in general been described that most worms of <i>H. nana</i> are lost in 3 or 4 weeks of egg inoculation (Weinmann, 1971).		
dd	≥6 months	Ito (1978)
dd	>3 months	Kano and Ito (present data)

うとされている (Weinmann, 1970, 1971). 種々の系統マウスにおける本虫の生存期間を明示した報告を Table 5 にまとめた. これまでに報告されている本虫の生存期間は, 今回用いた dd マウス以外のマウス系統では, いずれも 1~2 カ月以内に殆どの虫体が排出されている. それに先立ち, 2~3 週目に急激な虫体数の減少が始まると報告されている.

実験 1 の観察から, 市販の ddY マウスは虫卵摂取 20 日目以後虫体数の著しい減少が認められ, 60 日目以内に大部分 (94.5%) の虫体が排除されたことから, 基本的には虫体排出が 1~2 カ月以内に起こるとされる多くの報告 (Table 5) と同様であった. しかしながら, 個々のマウスでの虫体数をみるとかなり個体差があり, 90 日目でも小数ながら成熟虫体寄生が認められた例も観察された. これに対し, dd マウスにおける本虫の生存期間はすでに推察された (Ito, 1978, 1981) ごとく, 例外的

に著しく長いことが, 今回虫卵投与後 90 日までの定量的方法による経目的観察から確認された. これらの成績は雌雄いずれでも同様でマウスの性差による本虫の寄生動態の差異は認められなかった. すなわち dd マウス個体群では本虫の虫体数の著しい減少は虫卵投与後 60 日目でも殆ど認められなかった. 個々のマウスにおける虫体数を調べたところ 90 日目に虫体数の著しい減少が認められた個体が出現したが, 虫体寄生が認められなかった例は, 20 例中ただ 1 例であった. しかしながら減少の殆ど認められなかった個体がなお大半を占めていた. dd マウスにおける虫体の成熟度 (湿重量, 虫卵数, EPG) は, ddY マウスに比べ著しく高く, dd マウス寄生の 60 日令虫体あるいは 90 日令虫体の成熟度は dd マウス寄生 15 日令虫体の成熟度に比べ半減していたにもかかわらず, 市販の ddY マウス寄生 15 日令虫体の成熟度にほぼ匹敵していた. 以上の成績から, dd マウスではこれまでに報告されているマウス系統に比べ例外的に本虫の生存期間が長いと結論される.

本虫感染によつて獲得される免疫の問題に関して, 虫卵 challenge に対する再感染防御免疫が胸腺依存の機構であることが新生時胸腺摘出 (Okamoto, 1968, 1970) ならびに抗胸腺細胞血清処置 (Okamoto and Koizumi, 1972) によつて証明されている. 先天的に胸腺欠除したヌードマウスでは多数の (自家) 再感染虫体の寄生が認められるのみならず初感染虫体の生存期間が延長されることなどから再感染防御のみならず初感染虫体の排虫も胸腺依存の免疫機構が関与している現象であることが証明されている (Isaak *et al.*, 1977). 本虫の虫卵摂取マウスが獲得する免疫応答には, 虫卵 challenge に対する免疫 (Hunninen, 1935a; Hearin, 1941; Heyneman, 1963) のみならず, 擬囊尾虫 challenge に対する免疫 (Heyneman, 1963; Isaak *et al.*, 1977; Ito, 1978, 1980), さらに初感染虫体の排虫免疫 (Isaak *et al.*, 1977) と少なくとも 3 種類が報告され, それぞれ early response (R.), late R., worm expulsion R. と呼ぶことが提唱され (Ito, 1980), マウス系統間でそれぞれの発現速度が異なることが強く示唆されている (Ito, 1980, 1981, 1982).

実験 2 では ddY, dd, BALB/c の 3 系統マウス群間での再感染防御免疫の発現速度を (1) 虫卵 challenge (tissue phase) に対する免疫 (early R.) ならびに (2) 擬囊尾虫 challenge (lumen phase) に対する免疫 (late R.) のそれぞれについて比較した. その結果, ddY マウスにおける虫卵 challenge に対する免疫の発現は, すでに 24

時間目で対照群における腸絨毛内寄生擬囊尾虫数より有意の減少 ($p < 0.02$) として認められ、3日以内にはほぼ完全に獲得されることが判明した。ddY マウスで3日目に観察される強い免疫と同等の強い免疫の発現は、dd マウスでは5日目に観察された。一方BALB/c マウスではddY マウスと同様3日目に認められたが1日目では免疫の発現が認められなかつた成績から、ddY マウスはBALB/c マウスよりも若干早く虫卵 challenge に対する再感染防御免疫を獲得すると考えられた。すなわち early R. の発現は、ddY マウス、BALB/c マウス、dd マウスの順であつた。一方虫卵 challenge に対する免疫を獲得してしまつた ddY マウスにおいても擬囊尾虫 challenge に対する免疫の発現は10日目までは全く発現していなかつた (Table 3)。

ddY マウスにおける擬囊尾虫 challenge に対する免疫 (late R.) は15日目に初めて対照群に比べ有意の感染虫体数の減少 ($p < 0.01$) として認められたが、この事実は12~15日までに late R. が完成してしまうBALB/c マウス (Ito, 1980) よりも免疫発現が遅いこと、また15日目では全く免疫発現が認められない dd マウス (Ito, 1980) よりも早いことを明示する。すなわち late R. の発現速度はBALB/c マウス、ddY マウス、dd マウスの順であつた。以上の成績 (実験 2-A, 2-B) は虫卵摂取 ddY マウスが虫卵、擬囊尾虫それぞれに対する再感染防御免疫を異つた time course で獲得することを明示するものであり、それぞれの发育段階 (虫卵、擬囊尾虫) に対する免疫が別個の time course で発現するものであるとする Ito (1980, 1982) の成績を支持するものである。

今回用いた市販の ddY マウスにおける本虫の生存期間を Ito (1980, 1981) が用いた dd マウスを対照群として観察した結果 (実験 1) から、ddY マウスにおける本虫の生存期間はBALB/c, dd両系統マウスにおける生存

期間の中間的長さと考えられる。以上の実験 1, 2 の成績を Table 6 にまとめた。Table 6 から判るように ddY マウスにおける late R. の発現速度が15~30日で同様にBALB/c マウス、dd マウスの中間的成績であり、初感染虫体の消長動態とよく一致していた。それに対し early R. は1~3日で発現し、BALB/c マウスよりも若干早めの傾向であり、初感染虫体の消長動態とは一致しなかつた。初感染虫体の消長は lumen phase 虫体の消長であり、late R. が同様に lumen phase (初期虫体) に対する免疫の発現であることから初感染虫体の消長は late R. による影響を受けると解釈できる。early R. の発現が早いマウスでは late R., worm expulsion R. も早いとは言いきれず (Table 6)、この問題ではさらに多くのマウス系統間での比較が必要かと思われる。

early R. は腸絨毛内に侵入した六鉤幼虫を攻撃目標とする応答であることが最近証明されている (Weinmann, 1974; Ito and Yamamoto, 1976; Ito, 1977b; Friedberg *et al.*, 1979; Miyazato *et al.*, 1979; Furkawa *et al.*, 1981) が、今回の実験 2-B の成績ならびに Ito (1980) からも擬囊尾虫が攻撃目標になつていないことは明らかである。これらの事実は praziquantel を用いた感染実験によつても再確認されている (Ito, in preparation)。虫卵摂取後 late R. を12~15日以内に獲得するBALB/c マウスでは虫卵の代りに擬囊尾虫を摂取した場合に (自家) 再感染がおこりにくいことが最近報告されている (Isaak *et al.*, 1977; Ito, 1982)。すなわち擬囊尾虫を摂取したBALB/c マウスでは初感染擬囊尾虫由来成虫が産出した虫卵から、同一個体マウス小腸内で孵化した六鉤幼虫が腸壁に侵入し、正常に擬囊尾虫に发育した後、腸腔での成虫化が阻止される結果であり、擬囊尾虫摂取による lumen phase が次世代の lumen phase にだけ影響を与える結果とする報告である (Ito, 1982)。

Table 6 Correlation of the survival period of *Hymenolepis nana* and the acquisition of the immune responses against *H. nana* reinfections in the three strains of mice initially given eggs

Mouse strain	BALB/c	ddY	dd
Onset of the early response directed against egg challenge	2- 3 days*	1- 3 days	2- 5 days
Onset of the late response directed against cysticercoid challenge	12-15 days	15-30 days	20-40 days
Survival period of <i>H. nana</i>	<40 days	≤60 days	>90 days

* : days after initial inoculation of 20 shell-free eggs of *H. nana*.

これまでの成書には（自家）再感染が擬囊尾虫の摂取（小児が中間宿主の擬囊尾虫感染昆虫を誤飲した結果など）による lumen phase が免疫原として働かないためであると記されてきた (Heyneman, 1963). しかしここ10年における条虫の lumen phase の免疫原性の解析から, lumen phase 自体の免疫原性を明示あるいは示唆する結果が本虫のみならず, 他の条虫感染においても報告されだしている (Tan and Jones, 1968; Wassom *et al.*, 1974; Hopkins, 1980; Andreassen, 1981; Ito, 1980, 1982).

本虫感染における, lumen phase の免疫原性を論ずるにあたり, 上述の（自家）再感染の有無と late R. の発現速度との関係を考察することは興味深く, 次に dd Y, dd 両系統マウスに擬囊尾虫 (dd Yマウスから集めた) を摂取させ, (自家)再感染の有無を観察した (実験3). その結果は, dd マウス28匹中27匹 (98%) で平均724条の虫体による再感染が観察されたのに対し, dd Yマウス33匹中26匹 (79%) で再感染が生じ, 平均虫体数は110条であった. dd マウスにおける再感染虫体はすべてのマウス (27匹/27匹) において成熟虫体を含む個体群によつて形成されていたのに対し, dd Yマウスでは成熟虫体を含む個体群は26匹中11匹のみで, しかも虫体数の多い個体群ほど成熟虫体を含む傾向が認められた (Table 4). この成績は BALB/c マウスほど late R. が早く発現せず, なおかつ dd マウスほど late R. の発現が遅くない dd Yマウスでは, (自家)再感染が起り得ること, しかし再感染虫体数は dd マウスに比べ明らかに少なく, 未成熟虫体のみから構成され易いことを示唆するものである.

(1) 一般に crowding effect と呼ばれる現象で虫体数が増えるに従い虫体自体の発育が遅れることが報告されていること (Chandler, 1939; Read and Simmons, 1963; Roberts and Insler, 1982), (2) (自家)再感染が起りにくい BALB/c マウスでも, 先天的胸腺欠除ヌード (nu/nu) マウスでは多数の虫体による(自家)再感染が起ることが報告されていること (Isaak *et al.*, 1977), (3) dd マウスでは再感染虫体数の多寡にかかわらず, 全例で成熟虫体による再感染が生じていること, ならびに (4) late R. を獲得しているマウスでは challenge に用いた擬囊尾虫は脱囊した後発育することなしに2日以内に排出されてしまう観察がある (Ito, 未発表) ことなどから判断すると, dd Yマウスにおける(自家)再感染虫体数が少なく, その寄生虫体の構成が大半の例 (15匹/26匹) で未熟虫体であった成績は, lumen phase に対

する宿主の免疫応答 (late R.) の何らかの影響によるのではないかと考える.

結 語

小形条虫感染マウスにおける本虫初感染虫体の消長ならびに自家感染の有無について, 予備実験の結果から宿主側の免疫応答に差があることが予測された2系統マウスを用いて解析し次の結果を得た.

1, 小形条虫の生存期間は, 1) dd Yマウスと dd マウス間で著しく異なり (実験1), 2) 虫卵摂取による直接感染と擬囊尾虫摂取による間接感染のいずれにおいても, その傾向はほぼ同様であり, 性差による差異は認められなかつた. すなわち雌雄いずれにおいても dd Y マウスでは虫卵投与後20日目から急激な虫体数の減少をみ, 60日目までに殆どの虫体が排出されたのに対し, dd マウスでは虫体数の減少は60日目まで殆ど認められず90日目 (本実験最終日) でも20例中19例で成熟虫体の寄生が認められた.

2, 1, の本虫生存期間の著しい差異について, 虫卵摂取マウスにおける再感染防御免疫の発現速度を調べたところ, dd マウス, および BALB/c マウスのみならず, dd Y マウスにおいても, 1) 虫卵 challenge (tissue phase) に対する免疫の発現時期と, 擬囊尾虫 challenge (lumen phase) に対する免疫の発現時期とは明らかに異なることが判明し, 2) 本虫の生存期間は tissue phase に対する免疫の発現によるのではなく, lumen phase に対する免疫の発現によつて影響を受けることが強く示唆された.

3, 虫卵由来の初感染虫体が成熟した後2~3週たつてから lumen phase に対する免疫が発現し, 自家感染を起し易い dd マウスを対照群として, 擬囊尾虫投与後25日目に剖検する実験系で自家感染の有無を観察した結果, 擬囊尾虫摂取 dd Yマウスでは 1) 擬囊尾虫由来の成虫寄生率は, 70.3%, 寄生平均虫体数は, 8.2条で, dd マウスのそれぞれ100%, 22.6条に比べ著しく少なく, 実験1における虫卵由来成虫の消長と同様の傾向が観察された. 2) 自家感染率は, 78.8% (26匹/33匹), 自家感染虫体数は, 平均110条と dd マウスにおけるそれぞれ96.5%, 平均724条に比べ著しく少なかつた. さらに 3) 自家再感染虫体の成熟度は, crowding effect とは逆に, 虫体密度が低いほど未熟虫体のみから構成される傾向であつた.

以上の成績は小形条虫 lumen phase が免疫原性を有していないか, 免疫原性があるとしても非常に弱いため

に、擬囊尾虫摂取による間接感染では自家感染が惹起されるとするこれまでの定説では説明できない現象であり、lumen phase 自体が免疫原性を有する仮説 (Isaak *et al.*, 1977; Ito, 1980, 1981, 1982) によつて説明できる現象であり、擬囊尾虫摂取マウスにおける自家感染は、lumen phase に対する免疫発現時期と初感染擬囊尾虫由来成虫から産出された虫卵による第2世代の発育速度との関係で左右されるとする仮説 (Ito, 1980) に支持を与える成績と考える。

稿を終るにあたり御校閲賜わつた大友弘士教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Andreassen, J. (1981): Immunity to adult cestodes. *Parasitology*, 82, 153-159.
- 2) Berntzen, A. K. and Vogge, M. (1965): *In vitro* hatching of oncospheres of four Hymenolepidid cestodes. *J. Parasitol.*, 51, 235-242.
- 3) Bhopale, M. K., Savitri, C. R. and Kamath, V. R. (1979): Cell-mediated immunity responses during '*Hymenolepis nana*' infection in mice. *Bull. Hoff. Instt.*, 7, 35-37.
- 4) Brown, K. N. (1976): Specificity in host-parasite interaction. In *Receptors and Recognition (series A) vol. 1.* ed. by Cuatrecasas, P. and Greaves, M. F., Chapman & Hall, London, pp. 119-175.
- 5) Chandler, A. C. (1939): The effects of number and age of worms on development of primary and secondary infections with *Hymenolepis diminuta* in rats, and an investigation into the true nature of "premunition" in tapeworm infections. *Am. J. Hyg.*, 29, 105-114.
- 6) Crompton, D. W. T. and Joyner, S. M. (1980): *Parasitic worms*, Wykeham Publications, London, p. 178.
- 7) Ferretti, G. and Palmas, C. (1980): Methodology in experimental infections of mice with *Hymenolepis nana*. *Boll. Zool.*, 47, 165-184.
- 8) Ferretti, G., Gabriele, F. and Palmas, C. (1981): Development of human and mouse strain of *Hymenolepis nana* in mice. *Internat. J. Parasitol.*, 11, 425-430.
- 9) Friedberg, W., Neas, B. R., Faulkner, D. N. and Congdon, C. C. (1979): *Hymenolepis nana*: Intestinal tissue phase in actively immunized mice. *J. Parasitol.*, 65, 61-64.
- 10) Furukawa, T., Niwa, T. and Miyazato, T. (1981): Ultrastructural aspects of immune damage to *Hymenolepis nana* oncospheres in mice. *Internat. J. Parasitol.*, 11, 287-300.
- 11) Gemmell, M. A. (1976): Immunology and regulation of the cestode zoonoses. In *Immunology of Parasitic Infections*, ed. by Cohen, S. and Sadun, E., Blackwell, Oxford, pp. 333-358.
- 12) Gemmell, M. A. and MacNamara, F. N. (1972): Immune response to tissue parasites. II. Cestodes. In *Immunity to Animal Parasites*, ed. by Soulsby, E. J. L., Academic Press, New York, pp. 235-272.
- 13) Ghazal, A. M. and Avery, R. A. (1974): Population dynamics of *Hymenolepis nana* in mice: fecundity and the "crowding effect". *Parasitology*, 69, 403-415.
- 14) Grassi, B. (1887): Entwicklungscyclus der *Taenia nana*. *Centr. f. Bakteriolog., Orig.*, 2, 305-312. (cited by Hearin, 1941).
- 15) Hearin, J. T. (1941): Studies on acquired immunity to the dwarf tapeworm *Hymenolepis nana* var. *fraterna* in the mouse host. *Am. J. Hyg.*, 33, 71-87.
- 16) Heyneman, D. (1961): Studies on helminth immunity. III. Experimental verification of autoinfection from cysticercoids of *Hymenolepis nana* in the white mouse. *J. Inf. Dis.*, 109, 10-18.
- 17) Heyneman, D. (1962): Studies on helminth immunity. I. Comparison between luminal and tissue phases of infection in the white mouse by *Hymenolepis nana* (Cestoda: Hymenolepididae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11, 46-63.
- 18) Heyneman, D. (1963): Host-parasite resistance patterns—Some implications from experimental studies with helminths. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, 113, 114-129.
- 19) Hopkins, C. A. (1980): Immunity and *Hymenolepis diminuta*. In *Biology of the Tapeworm *Hymenolepis diminuta**, ed., Arai, H. P., Academic Press, London, pp. 551-614.
- 20) Hunninen, A. V. (1935a): Studies on the life history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in white mice. *Am. J. Hyg.*, 22, 414-443.
- 21) Hunninen, A. V. (1935b): A method of demonstrating cysticercoids of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in the intestinal villi of mice. *J. Parasitol.*, 21, 124-125.

- 22) Isaak, D. D., Jacobson, R. H. and Reed, N. D. (1977): The course of *Hymenolepis nana* infection in thymus-deficient mice. *Int. Archs. Aller. appl. Immunol.*, 55, 504-513.
- 23) Ito, A. (1977a): A simple method for collecting infective cysticercoids of *Hymenolepis nana* from the mouse intestine. *J. Parasitol.*, 63, 167-168.
- 24) Ito, A. (1977b): The mode of passive protection against *Hymenolepis nana* induced by serum transfer. *Internat. J. Parasitol.*, 7, 67-71.
- 25) Ito, A. (1978): *Hymenolepis nana*: Protective immunity against mouse-derived cysticercoids induced by initial inoculation with eggs. *Exptl. Parasitol.*, 46, 12-19.
- 26) Ito, A. (1980): *Hymenolepis nana*: Survival in the immunized mouse. *Exptl. Parasitol.*, 49, 248-257.
- 27) Ito, A. (1981): Comparison of the kinetics of infection with *Hymenolepis nana* between BALB/c and dd strains of mice. *Jap. J. Parasitol.*, 30, 439-446.
- 28) Ito, A. (1982): *Hymenolepis nana*: Immunogenicity of a lumen phase of the direct cycle and failure of autoinfection in BALB/c mice. *Exptl. Parasitol.*, 54, 113-120.
- 29) Ito, A. and Yamamoto, M. (1976): The mode of active protection against *Hymenolepis nana* reinfection in mice inoculated with different doses of shell-free eggs. *Jap. J. Parasitol.*, 25, 247-253.
- 30) Jaron, W. (1980): The course of infestation with *Hymenolepis nana* (von Siebold, 1852) in various strains of mice. 1. The intensity of infestation, the viability of strobila lengths, the location of tapeworms. *Acta Parasitol. Polonica*, 27, 185-194.
- 31) Joyeux, C. (1925): *Hymenolepis nana* et *Hymenolepis fraternus*. *Annales Parasitol.*, 3, 270-280. (cited by Hearin, 1941).
- 32) Lucas, S. B., Hassounah, O., Muller, R. and Doenhoff, M. J. (1980) Abnormal development of *Hymenolepis nana* larvae in immunosuppressed mice. *J. Helminthol.*, 54, 75-82.
- 33) Miyazato, T., Furukawa, T. and Inoue, T. (1979): Intestinal pathology associated with primary and secondary infections of *Hymenolepis nana* in mice. *Jap. J. Parasitol.*, 28, 185-195.
- 34) Okamoto, K. (1968): Effect of neonatal thymectomy on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. *Jap. J. Parasitol.*, 18, 591-594.
- 35) Okamoto, K. (1970): *Hymenolepis nana*: Depression and restoration of acquired immunity in neonatally thymectomized mice. *Exptl. Parasitol.*, 27, 28-32.
- 36) Okamoto, K. and Koizumi, M. (1972): *Hymenolepis nana*: Effect of antithymocyte serum on acquired immunity in mice. *Exptl. Parasitol.*, 32, 56-61.
- 37) Read, C. P. and Simmons, J. E. (1963): Biochemistry and physiology of tapeworms. *Physiol. Rev.*, 43, 263-305.
- 38) Roberts, L. S. and Insler, G. D. (1982): Developmental physiology of cestodes. XVII Some biological properties of putative "crowding factors" in *Hymenolepis diminuta*. *J. Parasitol.*, 68, 263-269.
- 39) Shorb, D. (1933): Host-parasite relations of *Hymenolepis fraternus* in the rat and mouse. *Am. J. Hyg.*, 18, 74-113.
- 40) Tan, B. D. and Jones, A. W. (1968): Resistance of mice to reinfection with the bile-duct cestode, *Hymenolepis microstoma*. *Exptl. Parasitol.*, 22, 250-255.
- 41) Wassom, D. L., DeWitt, C. W. and Grundmann, A. W. (1974): Immunity to *Hymenolepis citelli* by *Peromyscus maniculatus*: genetic control and ecological implications. *J. Parasitol.*, 60, 47-52.
- 42) Weinmann, C. J. (1966): Immunity mechanisms in cestode infections. In *Biology of Parasites*, ed. by Soulsby, E. J. L., Academic Press, New York, pp. 301-320.
- 43) Weinmann, C. J. (1970): Immunity in mammalian hosts. In *Immunity to Parasitic Animals*, ed. by Jackson, G. J., Herman, R. and Singer, I., Appleton, New York, pp. 1021-1059.
- 44) Weinmann, C. J. (1971): Immunity to *Hymenolepis nana* in the mouse. In *Experiments and Techniques in Parasitology*, ed. by MacInnis, A. J. and Voge, M., Freeman and Company, San Francisco, pp. 116-118.
- 45) Weinmann, C. J. (1974): *Hymenolepis nana* in mice: a potential model for the study of intestinal immunity. *Proceedings of the 3rd Internat. Congr. of Parasitol.*, Munich, 589.
- 46) WHO (1981): Intestinal protozoan and helminthic infections. *Technical Report Series* 666, p. 86.
- 47) Williams, J. F. (1982): *Cestode Infections. Immunology of Parasitic Infections*, (2nd Edit.), ed. by Cohen, S. and Warren, K. S., Blackwell, Oxford, pp. 676-714.

Abstract

INFLUENCE OF THE HOST IMMUNE RESPONSES ON THE MODES
OF PRIMARY INFECTION AND AUTOINFECTION
WITH *HYMENOLEPIS NANA* IN MICE

SHIRO KANO AND AKIRA ITO

(*Department of Parasitology, Gifu University School of
Medicine, Gifu 500, Japan*)

The fecundity and longevity of *Hymenolepis nana* was compared between the two closely related random-bred strains of mice (ddY, commercially available, and dd, laboratory-raised, closed colonies) from day 10 to day 90 (egg inoculation=day 0). In ddY mice, the patent period of *H. nana* started from day 12 and the highest figures in both biomass and egg production were observed on day 15, but thereafter most worms were rapidly expelled. Worm expulsion occurred within day 20 and almost all worms (94.5%) were lost by day 60. This mode of *H. nana* infection in ddY mice was basically similar to that in BALB/c mice (in which almost all worms were lost within day 40) as reported previously by Ito (1981). In contrast, all worms initially established in dd mice showed the highest figures for much longer period from day 15 to, at least day 30, and about half of them survived as mature worms at least till day 90, the last day of the experiment. The fecundity of *H. nana* recovered from dd mice on day 90 was similar to that recovered from ddY mice on day 15. The critically different figures in longevity and fecundity of *H. nana* between the two strains of mice of both sexes seemed to be well agreed with the different figures of the rapidity of onset of the late response directed exclusively against the lumen phase of *H. nana* and to provide additional evidence to reconfirm our previous results (Ito, 1981).

There was another different figure of the mode of autoinfection between these two strains of mice initially given ddY mouse-derived cysticercoids. In 26 of 33 ddY mice given cysticercoids, autoinfection with 110 worms in average occurred and most populations of autoinfection remained immature ($15/26$), whereas in 27 of 28 dd mice given the same infections, autoinfection with about 724 mature worms in average occurred. The mode of autoinfection (variation in population density and maturity) was discussed from both the crowding effect and the influence of the immune responses on *H. nana* reinfections.

It was strongly suggested that autoinfection which occurs in some strains of mice initially given mouse-derived cysticercoids is not a result of no or poor immunogenicity of the lumen phase of *H. nana* but is due to a delay of onset of immune response directed against the lumen phase (late response) with the result that secondary generation may mature.